

München, 1960

Die Ausscheidung freier 17-21-Dihydroxy-20-
Ketosteroide im Harn nach
Verabreichung von Nortestosteron-Derivaten

von

KARL HERBERT WELSCH

Aus der I.Frauenklinik der Universität München
Direktor: Professor Dr.W.Bickenbach

Die Ausscheidung freier 17-21-Dihydroxy-20-
Ketosteroide im Harn nach Verabreichung von
Nortestosteron-Derivaten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Karl Herbert Welsch
aus
Konstanz

München 1960

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. R e f e r e n t : Priv.Doiz.Dr.R.Kaiser

2. Referent: Prof.Dr.W.Bickenbach

D e k a n : Prof.Dr.Schwiegk

Tag der mündlichen Prüfung: 23.2.60

Meinen lieben Eltern
gewidmet.



Inhaltsverzeichnis.

- I. Einleitung.
- II. Die Hormone der Nebennierenrinde.
 - a) Chemie.
 - b) Biologische Wirkung.
 - c) Steuerungsmechanismus.
 - d) Metabolismus.
 - e) Ausscheidung.
- III. Die synthetischen Gestagene.
 - a) Chemie.
 - b) Biologische Wirkung.
 - c) Metabolismus.
- IV. Methodik.
 - a) Nachweismethoden der 17-21-Dihydroxy-20-Ketosteroide.
 - b) Angewandte Methode.
- V. Die Ausscheidung von Corticoiden nach Verabreichung von Nortestosteronabkömmlingen.
 - a) Literatur.
 - b) Eigene Ergebnisse.
- VI. Diskussion der Ergebnisse.
- VII. Zusammenfassung.
- VIII. Literaturangaben.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555220_0030

I. Einleitung.

Die vielfachen Bemühungen, bei hormonalen Insuffizienzen eine gleichmäßige und über einen längeren Zeitraum ausgedehnte Versorgung des Organismus mit Gestagenen zu sichern, haben in neuerer Zeit große Fortschritte gemacht.

Djêrassi fand 1954 eine neuartige Gruppe von Nortestosteron - Abkömmlingen, bei denen sich besonders starke progestative oder gestagene Eigenschaften abzeichneten. Im Gegensatz zum Progesteron, das bekanntlich oral nicht wirksam ist und auch nicht verestert werden kann, können die neuen Substanzen leicht verestert werden und sind auch bei oraler Verabreichung voll wirksam. Damit ist das seit einigen Jahren bestehende Problem gelöst, geeignete Steroide mit oraler progestativer Wirkung und der Möglichkeit zur Veresterung herstellen zu können.

Die Frage, ob die Nortestosteronderivate einen Einfluß auf die Ausscheidung der Corticosteroide haben, ist von Interesse, da einerseits eine enge Beziehung zwischen Gonade und Nebennierenrinde (NNR) vorhanden ist, andererseits das natürliche Progesteron eine zentrale Rolle in der Biosynthese der Steroidhormone spielt. Außerdem besteht neben der strukturellen Ähnlichkeit zwischen den Corticoiden, dem Progesteron und Testosteron auch eine pharmakologische und biologische Verwandtschaft. Bei der wachsenden Bedeutung der Nortestosteron-Abkömmlinge sind auch eventuelle Rückwirkungen auf das adrenocorticotrope Hormon des HVL zu beachten.

Auf Grund dieser Überlegungen wurde in der vorliegenden Arbeit nach Verabreichung von zwei veresterten und zwei unveresterten Derivaten des 19 - Nortestosterons die Ausscheidung der Corticoide im Harn vor und nach der Verabreichung kontrolliert.

II. Chemie der Nebennierenrindenhormone.

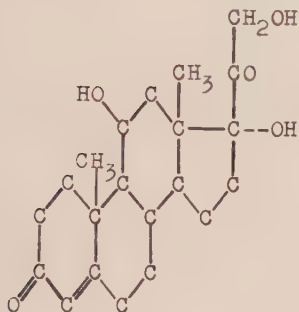
Die Isolierung und Strukturaufklärung der zahlreichen Nebennierenrindenhormone gelang erst in den letzten Jahren und ist noch nicht abgeschlossen, denn die große Zahl der Rindensteroiden erfordert eine umfangreiche physiologische Forschung. Es wurden bisher über 29 verschiedene Steroide aus der NNR dargestellt. Wie die Keimdrüsenhormone sind sie Abkömmlinge des Sterans oder Cyclopentanoperhydrophenanthrens. Die chemischen Unterschiede zwischen den einzelnen Steroiden bestehen im Sättigungsgrad des Ringsystems, in der Struktur der Seitenketten am Kohlenstoffatom C_{17} und in der Substitution des Wasserstoffs an C_3 und C_{11} .

Die in ihrer chemischen Struktur und biologischen Wirksamkeit wichtigsten NNR-Steroide sind:

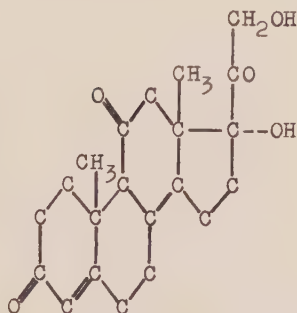
- 17-Hydroxycorticosteron (Cortisol),
- 11-Dehydro-17-hydroxycorticosteron (Cortison),
- Corticosteron (Compound B),
- 11-Dehydrocorticosteron (Compound A),
- 11-Desoxycorticosteron (Verbind. Q von Reichstein),
- 11-Desoxy-17-hydrocorticosteron (Verb. S v. Reichstein).

Diese sechs NNR-Steroide werden als **C o r t i n e** bezeichnet, im Gegensatz zu den physiologisch unwirksamen **C o r t i c o i d e n**, die meist intermediäre Produkte der Cortine sind. Die Cortine und auch das Progesteron - letzterem kommt eine große Bedeutung im intermediären Umbau der Cortine zu - sind Delta 4-3,20-Diketone. Im Unterschied zum Progesteron tragen alle Cortine eine Oxygruppe an C_{21} , sowie auch an einem oder mehreren der C-Atome 11,17 Hydroxyl- oder Carbonylsauerstoff. Allen C_{21} -Steroiden liegt das Pregnan oder Allopregnangerüst zugrunde. Sie enthalten jeweils 21-Kohlenstoffatome.

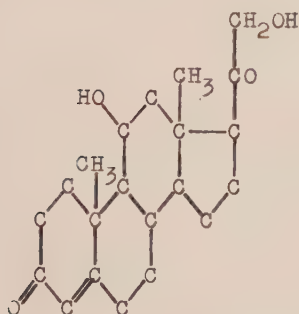
17-Hydroxycorticosteron
(Cortisol)



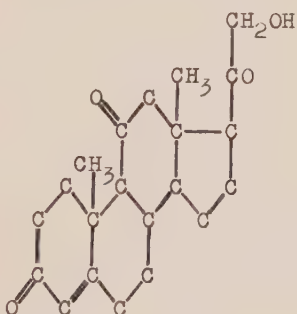
11-Dehydro-17-Hydroxy=
corticosteron(Cortison)



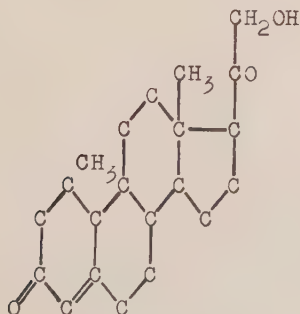
Corticosteron



11-Dehydrocorticosteron



11-Desoxycorticosteron



Biologische Wirkung der NNR-Hormone.

Bereits Addison und Browne-Sequard haben in den Jahren 1855-56 erkannt, daß ein Verlust der Nebennierenrinde nur kurze Zeit mit dem Leben vereinbar ist.

Als erste einen hochwirksamen NNR-Extrakt entwickelt und seine Darstellung im einzelnen beschrieben zu haben, ist das Verdienst von Swingle und Pfiffner (1929). Einige Jahre später gelang es Kendall, Reichstein und Wintersteiner, das Corticosteron aus der NNR zu isolieren und in seiner Struktur aufzuklären. Reichstein gelang kurz darauf die Synthese des Desoxycorticosterons (DOC), welches als Essigsäureester noch heute eines der wichtigsten wirksamen Steroide in synthetischer Form für die Klinik ist.

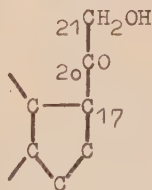
Umfangreiche Untersuchungen ergaben, daß den C_{21} -Steroiden der NNR unterschiedliche Wirkungen zukommen. Aber es sind nur wenige, die, soweit heute bekannt, eine physiologisch-biologische Wirkung besitzen. Die meisten der C_{21} -Steroide sind Metabolite, die teils unmittelbar, teils in mehrstufigen Umwandlungsfolgen unter Mitwirkung von Fermentsystemen aus einigen Stamm- oder Schlüsselverbindungen hervorgehen (20).

Es zeigte sich durch die Arbeiten der Mayo-Klinik in Rochester (Mason, Kendall, Hensch) und des Forscherkreises um Selye, daß vor allem den 11-Oxycorticosteroiden eine große Bedeutung zukommt. Es handelt sich um Substanzen, die vorwiegend den Kohlehydrat-haushalt des Organismus beeinflussen und unter dem Namen "Zuckerhormone" oder S-Hormones (sugar hormones) oder Glukocortine zusammengefaßt werden. Dazu gehören 17-Hydroxycorticosteron, 11-Dehydro-17-Hydroxycorticosteron, Corticosteron und 11-Dehydrocorticosteron. Die Glukocortine fördern bei Kohlenhydrathunger des Organismus und starken Belastungen (Stress) des Körpers (40) die Glykogen-

bildung aus Proteinen (Glykoneogenese) und somit im Notfall die Bereitstellung von Glukose. Ferner begünstigen sie die Stickstoffausscheidung und Desaminierung, hemmen das Wachstum lymphatischen Gewebes und des Mesenchyms, und beeinflussen die eosinophilen Zellen des Blutbildes (6).

Cortine ohne Sauerstoff an C_{11} -haben vorwiegend H a l o - c o r t i n wirkung. Eine Ausnahme macht das Aldosteron, obwohl an C_{11} eine Oxygruppe vorhanden ist, stellt es das weitest aus wirksamste Halocortin dar. Zugleich äußert es aber auch eine erhebliche Glukoaktivität. Das 11-Desoxycorticosteron scheint ausschließlich auf den E l e k t r o l y t haushalt zu wirken. Fehlt es, so kommt es zur vermehrten Ausscheidung von Na^+ in der Niere und zum Absinken der Natriumwerte im Blut. Um die Isotonie des Blutplasmas zu erhalten, wird Wasser abgegeben. Es kommt zur Eindickung des Blutes und zum Abfall des Blutdruckes. Gleichzeitig verläßt Kalium die Zelle und Natrium wird intrazellulär angereichert.

Die charakteristischen biologischen Wirkungen der Cortine sind bedingt durch das gleichzeitige Vorliegen der Delta 4-3-Ketogruppe am Ring A und der Beta-ständigen 20-21-Ketolseitenkette am C_{17} -Atom.



Die Wirkungsbreite der Cortine scheint von der Anzahl der Sauerstoffatome im Molekül abzuhängen. Es zeigt sich, daß den biologisch wichtigsten NNR-Steroiden - in der Reihenfolge ihrer Aufzählung oben - eine immer schwächere glukoaktive und stärkere haloaktive Wirkung eigen ist. Damit wird gesagt, daß die glykogene oder halogene Wirksamkeit nicht einseitig an ein bestimmtes Hormon gebunden ist, sondern nur graduelle Wirkungsunterschiede bestehen.

Zusammenfassend kann man sagen, daß die NNR-Hormone in den Kohlehydrat- und Eiweißstoffwechsel eingreifen, eine regulatorische Funktion auf den Mineralhaushalt, insbesondere den Natrium- und Kaliumstoffwechsel haben und damit den

Wasserhaushalt beeinflussen. NNR-Hormone erhöhen die Ökonomie des Stoffwechsels und fördern die Leistungsfähigkeit der Muskulatur. Sie regulieren Blutdruck, Kreislauf und Zusammensetzung des Blutes (Eiweißgehalt und Viskosität). Außerdem hat die NNR große Bedeutung für die Entgiftung endogener und exogener Noxen.

Steuerungsmechanismus.

Das adrenocorticotrope Hormon (ACTH) der Hypophyse fördert innerhalb von Sekunden die Cortingenese in der NNR, indem es die Umwandlung von Cholesterin in die Cortinvorstufe Pregnenolon stimuliert (17). Alle nach der Umwandlung des Cholesterins in Pregnenolon folgenden Stufen der Cortinsynthese sind von ACTH unabhängig (21).

ACTH ist zur Erhaltung und gegebenenfalls bei erhöhter Anforderung an Cortinen zur Vermehrung der cortinbildenden Strukturen der NNR erforderlich. Unter der Einwirkung von Belastungsreizen exogener oder endogener Natur wird primär der Hypophysenvorderlappen (HVL) zur vermehrten Produktion von ACTH stimuliert. Die zahlreichen physiologischen und pathologischen Reize, welche die Hypophyse stimulieren, faßt S e l y e als Stress zusammen (40). " S t r e s s " stimuliert über eine Adrenalinausschüttung bevorzugt die Hypophyse und S e l y e nimmt an, daß durch eine Mehrproduktion von ACTH in der NNR besonders eine Ausschwemmung von Cortison-artigem Hormon erfolgt, vor allem eine Mehrproduktion von Glukocortinen.

Stellen sich hohe Cortinkonzentrationen ein, so geht die Sekretion von ACTH zurück (Antagonismus). Die ACTH-Produktion kann sosehr gedrosselt werden, daß die entsprechenden Rindenbezirke atrophieren.

Die Hypophyse erhält ihrerseits Impulse vom Hypothalamus, die aber wahrscheinlich nicht auf einem direkten nervösen Weg zur Adenohypophyse gelangen, sondern die, wie kürzlich gezeigt werden konnte, über den Hinterlappen oder nach

L o n g vermittelt zentrifugaler Fasern über das Nebennierenmark (Adrenalin ausschüttung) den Vorderlappen beeinflussen (42).

Biogenese und Metabolismus der NNR-Hormone.

C₂₁-Steroide können aus dem C₂₇-Steroid C h o l e s t e r i n hervorgehen. Acetat beziehungsweise Essigsäure kann hierbei als kleinste Baueinheit fungieren. Das an der Verkürzung der Seitenkette des Cholesterins mitwirkende Enzym soll in der Mitochondrienfraktion von zentrifugiertem NNR-Homogenat zu finden sein (42). Möglicherweise wird zu Beginn der Synthese eine dem Acetoacetat verwandte C₄-Einheit gebildet (28). Auf jeden Fall entstehen die Delta 4,3-Ketovorstufen der biologisch aktiven Verbindungen aus einem Delta 5,3-Oxysteroid durch Oxydation (27).

Die Inaktivierung der C₂₁-Steroidhormone und ihre Umwandlung in Metabolite geschieht unter Hydrierung von C = O und C = C -Doppelbindungen, sowie gegebenenfalls unter Abspaltung der Seitenkette. C₂₁-Steroide, die an den C-Atomen 20 und 17 Sauerstoff tragen, können im Organismus zu C₁₉-Steroiden (neutrale 17-Ketosteroide) abgebaut werden. Als Intermediärprodukt bei der von Acetat ausgehenden Biosynthese der Cortine kommen das C₁₉-Steroid D e h y d r o e p i a n d r o s t e r o n (DHA) (47), ferner das aus Cholesterin hervorgehende C₂₁-Steroid Pregnenolon (29), sowie NNR-Progesteron in Frage.

Eine Umwandlung von Pregnenolon in Progesteron, Corticosteron und 17-Oxycorticosteron wurde bei Perfusionsversuchen der NNR beobachtet (20). Ein Teil der C₂₁-Steroide wird durchgreifend abgebaut, sodaß es zum Verlust der Steroidnatur kommt.

Ausscheidung im Harn.

Die zahlreichen im Harn vorhandenen C_{21} -Steroide sind bei beiden Geschlechtern vorwiegend Corticoide, d.h. Metabolite der Cortine. Die meisten Steroidmetabolite sind nicht ohne weiteres harnfähig. Sie müssen daher in Form leicht wasserlöslicher Konjugate ausgeschieden werden. Die Corticoide erscheinen im Harn als *G l u k u r o n i d e*, soweit bisher festgestellt. Wenn sie Oxygruppen besitzen, werden sie durch Veresterung mit Schwefelsäure an der 3-alpha-Oxygruppe oder durch beta-glykosidische Verknüpfung mit Glukuronsäure wasserlöslich (26). Steroide, die keine Oxygruppe besitzen, werden möglicherweise durch Kondensation mit Polypeptiden in wasserlösliche Konjugate überführt. Bei der Isolierung freier Steroide aus dem Harn müssen die Konjugate hydrolytisch gespalten werden. Hierbei können Artefakte entstehen. Besonders die empfindlichen Cortine sind derartigen Veränderungen ausgesetzt. 24 der 62 bis jetzt bekannten C_{21} -Steroide wurden teils ausschließlich im Harn, teils auch in NNR-Extrakten nachgewiesen, unter ihnen Progesteron und die Cortine.

Frühere Untersuchungen geben die Menge der normalerweise im Harn vorhandenen freien Cortine mit 50 -100 μ in 24 Stunden an (23,1). Neuerdings sind alle sieben eigentlichen NNR-Hormone in freier ungebundener Form aus dem Urin in kleinen Mengen isoliert worden; von Cortisol und Cortison sind es 10 -200 μ im Tagesurin (22).

Die durch primäre Reduktion der Doppelbindung und der 3-Oxo-Gruppe entstehenden Tetrahydrocorticoide werden fast in ihrer Gesamtheit in 3-Stellung durch eine in Leber-Mikrosomen aufgefundene Glykosidase an Glukuronsäure gebunden und so im Harn ausgeschieden. Unter ihnen wird an Tetrahydrocortison normal bis etwa 5 mg tägl., an Tetrahydrocortisol bis 3mg tägl. ausgeschieden (22).

Inwieweit erlauben die Harncorticoidwerte Rückschlüsse auf die Corticosteroidproduktion? H e a r d und S o b e l

behaupten, daß das mit ihrer Methode gemessene Reduktionspotential im Harn in einem direkt proportionalen Verhältnis zur NNR-Funktion stünde. S t a u d i n g e r (26) hält ein solches konstantes Verhältnis nicht in jedem Fall für gegeben. Der Organismus wird dieses lebenswichtige Hormon nur dann abführen, wenn die Reserve im Plasma (oder in einem hypothetischen Depot) jede zusätzliche Belastung auffangen kann. Unter besonderen noch physiologischen Bedingungen, wie einige Zeit nach Belastungen, kann also die Ausscheidung der NNR-Hormone bei gleichbleibender Produktion absinken. Dadurch sind extreme Schwankungen zu erklären. Ferner ist bei der Beurteilung der Harnwerte zu berücksichtigen, daß höchstens 10% der Produktion durch die Nieren eliminiert wird (48).

III. Die Synthetischen Gestagene.

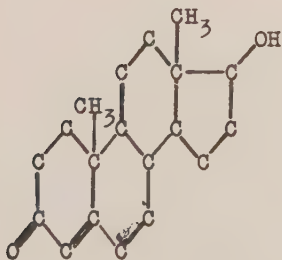
Unter den Progesteronderivaten erweisen sich nach parenteraler Applikation besonders C_{19} -Nor-, sowie 11-Dehydro- und 17-Methyl-Progesteron wirksamer als Progesteron selbst. Weiter besitzt das 17-Oxyprogesteroncapronat eine gestagene Wirkung. Sie ist größer, als die des 17-Oxyprogesterons. Dazu hat der Ester im Vergleich mit Progesteron in Ölsuspension eine deutlich verlängerte Wirkung.

Unter den Testosteronverbindungen finden sich Präparate, z.B. das 17-Äthinyltestosteron, das eine mäßige gestagene Aktivität bei oraler Verabreichung besitzt.

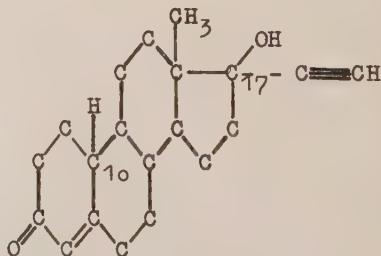
Ihnen weit überlegen sind die 19-Nortestosteron derivative, die vorallem oral stark wirksam sind. Sie sind ebenfalls synthetisch hergestellte Substanzen.

Die Bezeichnung "19-Nor" besagt, daß diesen Verbindungen ebenso wie den Oestrogenen die am C_{10} -Atom befindliche C_{19} -Methylgruppe fehlt. Den 19-Nortestosteronderivaten fehlt jedoch auch der aromatische Ring der Oestrogene. Wie der Name besagt, sind sie in ihrer Struktur dem natürlichen C_{19} -Steroidhormon Testosteron nahe verwandt. Zum Vergleich ist die chemische Strukturformel des natürlichen C_{19} -Steroids Testosteron neben den von uns verwendeten synthetischen C_{19} -Testosteronderivaten wiedergegeben.

In der Natur konnten 19-Norsterioide bislang nicht aufgefunden werden. Über ihren Stoffwechsel im Organismus ist noch wenig bekannt. Chemisch werden sie aus Oestrogenen hergestellt.

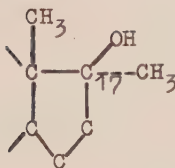


Testosteron

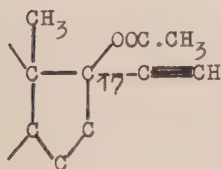


17-Äthinyl-19-nortestosteron

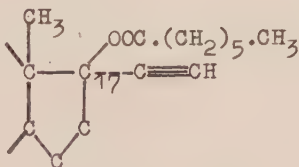
17-Methyl-19-Nortestosteron



19-Nortestosteron kann verestert werden;
entsprechende Formen sind die des Oenanthats ($\text{C}_{27}\text{H}_{44}\text{O}_2$)
oder des Acetats ($\text{C}_{29}\text{H}_{48}\text{O}_2$).



17-Äthinyl-19-nortestosteron-
acetat



17-Äthinyl-19-nortesto-
steronoenantat

Biologische Wirkung.

In ihren physiologisch-biologischen Wirkungen sind die bekannten Nortestosteron derivate nur zum Teil mit dem Testosteron verwandt.

Obgleich dem Methyl- und Äthinyl nortestosteron eine gewisse androgene und anabole Wirkung zukommt, in stärkerem Umfang der Methylverbindung, ist jedoch vorallem die gestagene Wirksamkeit dieser Präparate von praktischer Bedeutung. Darunter versteht man dem Progesteron zukommende Effekte, z.B. die sekretorische Umwandlung der Uterusschleimhaut. Für den progestativen Charakter der verschiedenen Nortestosteronderivate ist auch der thermoge-

netische Effekt bezeichnend (Erhöhung der Basaltemperatur) und ebenso die regressiven Veränderungen im Scheidenzellabstrich.

Die Nortestosteronabkömmlinge übertreffen die Wirksamkeit des Progesterons. Besonders tritt dies bei oraler Applikation in Erscheinung, wo Progesteron selbst in extrem hohen Dosen unwirksam ist.

Eine Depotwirkung kommt besonders den veresterten C₁₉-Nortestosteronderivaten zu. Äthinylnortestosteron oenanthat hat bei einmaliger parenteraler Applikation in Dosen von 50, 100, 200 mg eine gestagene Depotwirkung von etwa 3-5 Wochen, nachgewiesen an der Basaltemperaturerhöhung, der Endometriumtransformation und der Abbruchblutung. Die Basaltemperaturerhöhung hält etwa 25-35 Tage an, je nach Höhe der Dosierung. Die Abbruchblutung setzt durchschnittlich nach vier Wochen ein und dauert 5-6 Tage (41).

Metabolismus.

Über den Um- und Abbau des Nortestosterons und seiner Abkömmlinge ist noch kaum etwas bekannt. Wegen ihrer nahen chemischen Verwandtschaft zu den natürlichen C₁₉-Steroiden besteht die Möglichkeit, daß Nortestosteron auf ähnliche Weise metabolisiert wie natürliche C₁₉-Steroide.

Man kann 17-Äthiny1-19 nortestosteron auch als Anhydroxynorprogesteron, Norpregneninolon oder Äthinyloestrenolon bezeichnen. Dies zeigt, daß es viele Möglichkeiten einer Ableitung der 19-Nortestosteronderivate gibt.

L. Engel und Mitarb. haben in jüngster Zeit (27) nach i.m. Verabreichung von 19-Nortestosteron in Suspensionsform aus dem Harn 19-Norandrosteron und 19-Norätiocholanol isoliert. Wegen der nahen chemischen Verwandtschaft dieser Substanzen mit Abbauprodukten des Testosterons, ist es wahrscheinlich, daß Nortestosteron ähnlichen Stoffwechselvorgängen unterworfen ist wie Testosteron.

Die Abbauprodukte des Testosterons sind 17-Ketosteroide. Nur rund ein Drittel der Ketosteroide im Harn entstammen

jedoch dem Testosteron, zwei Drittel sind Abkömmlinge der NNR-Hormone. Vorwiegend in Leber und Niere werden C_{19} -Steroide in Metabolite umgewandelt oder abgebaut. Zwei Enzymsysteme in der Leber greifen am Testosteron an. Ein erstes oxydiert die 17-ständige Hydroxylgruppe zur 17-Ketogruppe des 4-Androstendion-(3,17) und den Ring A zu einem gesättigten Alkohol. Das zweite spielt beim Menschen wahrscheinlich eine geringere Rolle und wirkt zuerst auf den Ring A ein (10). Die gesamten 17-Ketosteroide steigen nach Testosteroninjektionen im Plasma an und erreichen 20 Minuten später ein Maximum. In der Leber wird dann Testosteron am C_3 -Atom an Glukuron- und Schwefelsäure gebunden. Die Ausscheidung im Urin erfolgt zu 40% als Ätiocholanolon, Androsteron und seinem isomeren Epiandrosteron. Mehr als die Hälfte des Testosterons verläßt den Körper in unbekannter Form.

IV. Nachweismethoden der 17-21-Dihydroxy-20-Ketosteroide.

Für den Nachweis der C_{21} -Steroide muß man unterscheiden zwischen den biologischen Testmethoden und dem chemischen Nachweis. Der biologische Nachweis beruht auf der Beobachtung bestimmter funktioneller oder morphologischer Veränderungen. Bei der Kompliziertheit der biologischen Vorgänge ist die Ausführung der Versuche mit großen Schwierigkeiten verbunden und viel zu ungenau. Demgegenüber steht die genauere quantitativchemische Methode. Hier lassen sich exaktere Aussagen machen. Der Vorteil liegt in der größeren Spezifität und der geringeren methodischen Streubreite (6). Beim chemischen Nachweis von C_{21} -Steroiden handelt es sich bisher ausschließlich um Methoden, durch die größere Stoffgruppen auf Grund bestimmter gemeinsamer chemischer Eigenschaften, wie Löslichkeit und Reduktionsvermögen, nachgewiesen werden.

Auf Grund vielseitiger Untersuchungsergebnisse zahlreicher Autoren (Verzár, Reichstein, Langenbeck und Staudinger) (28) über die spezifische Wirksamkeit der $CO.CH_2OH$ -Gruppe der Corticosteroide, bemühte man sich, diese Gruppe mit einer chemischen Methode quantitativ zu erfassen. Insbesondere wurden die gängigen Methoden zur Zuckerbestimmung nach Hagedorn - Jønsen und von Shaffer - Somogyi, die auf der Reduktion von dreiwertigem Eisen resp.-zweiwertigem Kupfer in Form der Komplexsalze beruhen, geprüft, wegen des charakteristischen starken Reduktionsvermögens dieser Gruppe (5). Es stellte sich aber heraus, daß für die geringen frei vorkommenden Mengen der 17-OH-Corticosteroide (17-OHCS) diese Methoden nicht empfindlich genug sind.

Dagegen erwies sich die Reduktion von Phosphormolybdänsäure zu Molybdänblau als geeigneter. Dieser Reduktionsvorgang kann colorimetrisch quantitativ erfaßt werden und ist proportional der Menge der 17-OH-Corticosteroide (44).

Eine andere Nachweismethode beruht auf der Oxydation der Ketolseitenkette mit P e r j o d s ä u r e , wobei ein Molekül Formaldehyd entsteht, das quantitativ nachgewiesen werden kann(4). Die Schwierigkeit dieser letztgenannten Methode liegt in der Destillation kleiner Formaldehydmengen (45), die sich durch Chromotropsäure colorimetrisch bestimmen lassen. Eine große Anzahl von mehr oder weniger stark reduzierenden Stoffen geben, wenn auch in verschiedener Stärke, die gleiche Reaktion mit P-Molybdänsäure wie die Corticoide. Dazu gehören z.B. physiologisch unwirksame Steroide, Reduktionsprodukte des Cortinstoffwechsels ohne die alpha-beta-ungesättigte Seitenkette an C₃, aber mit der Ketolseitenkette an C₁₇. So können hohe Mengen an Hormonen vorgetäuscht werden (30). Außerdem stören möglicherweise Pregnan diol und Progesteron.

S t a u d i n g e r und S c h m e i s s e r (30) beschrieben eine Methode, die die entscheidende Gruppe $\text{CO}\cdot\text{CH}_2\text{OH}$ mit Alkalien zerstört und somit deren Reduktionsvermögen ausschaltet. Die ganze Methode läuft auf ein Differenzverfahren hinaus. Die eine Hälfte des zu bestimmenden Hormons wird durch Alkalien spezifisch zerstört und gegen die unzerstörte Hälfte colorimetriert. Allerdings gilt auch hier die Einschränkung, daß noch alle Substanzen mit einer $\text{-CO}\cdot\text{CH}_2\text{OH}$ -Gruppe unbekannter Herkunft mitbestimmt werden. Gluko- und Mineralocorticoide lassen sich mit dieser Methode auch nicht unterscheiden.

Nach einem Vorschlag von S t a e m m l e r (9) kann man von einer leichter Petroläther löslichen (11-Desoxycorticosteron) und einer leichter wasserlöslichen (11-Oxycorticoide) Fraktion sprechen. In einem Differenzverfahren kann man Gluko- und Mineralocortine zwischen Wasser und Benzol verteilen (2). Dadurch gehen 80-85% des Cortisons und nur 8-10% des Desoxycorticosteronacetats in die wässrige Phase. Die Hormone der NNR sind umso leichter wasserlöslich, je mehr Sauerstoffgruppen sie tragen. Dabei hat die Hydroxylgruppe an C₁₇ geringeren Einfluß auf die H₂O-Löslichkeit (46), als die Einführung eines Sauerstoffatoms an C₁₁ in

Form einer Hydroxyl- oder Ketogruppe.

Im Harn erscheinen die freien Corticosteroide nur in relativ kleinen Mengen, jedoch in großen Mengen ihre Abbau- und Umbauprodukte. Diese Corticoidmetabolite sind größtenteils an der 3 alpha-Oxygruppe mit Glukuronsäure beta-glukosidisch verknüpft und daher in organischen Lösungsmitteln unlöslich. Zu ihrer Bestimmung muß man die Glukoronide zunächst spalten, um sie nunmehr als freie Corticoide mit organischen Lösungsmitteln extrahieren zu können (10). S t a u d i n g e r und B a u e r (26) spalten die Glukoronide mit Leberglukoronidase.

N o r y m b e r s k i (29) hat eine Methode angegeben, wonach die 17-Hydroxycorticoide mit Na-Wismut zu 17-Ketosteroiden oxydiert werden. Letztere sind dann hydrolisierbar im Gegensatz zu den nicht hydrolisierbaren 17-OHC-Steroiden.

An der Methode von H ü b e n e r und Mitarb. (14) ist bemerkenswert, daß neben der chromatographischen Trennung in Xylol die Papierstreifen im Ultraviolett fotografiert werden, um die Corticoide sichtbar zu machen. Nach der Elution der ausgeschnittenen Papierstreifen, wird die Menge der Corticosteroide bei 24 m μ bestimmt. Der hier liegende Absorptionsstreifen ist charakteristisch für die Ketogruppe am C₃-Atom und für die Doppelbindung C₄ = C₅. Alle diese aufgeführten chemischen Nachweismethoden sind also Gruppenbestimmungen, die Schwierigkeit und Problematik liegt in der Reinigung der einzelnen Fraktionen und spezifischen Auftrennung. Nach den bisherigen Erfahrungen war es noch nicht möglich, ein spezifisches Verfahren für ein einzelnes Hormon zu finden. Einerseits zeigen die zahlreichen Steroidhormone eine so nahe chemische Verwandtschaft (38), und andererseits werden viele Substanzen mitbestimmt, die keine Steroide sind, sondern nur die Eigenschaften der C₂₁-Steroide der NNR besitzen (6).

Angewandte Methode.

Die hier angewandte Methode zur Bestimmung der 17-21-Dihydroxy-20-Ketosteroide (17-OHCS) im Harn wurde von S t u h l f a u t h empfohlen (52).

Sie beruht auf der Modifikation des von S t a u d i n g e r und S c h m e i s s e r angegebenen Extraktionsverfahrens zur Gewinnung von 17-21-Dihydroxy-20-Ketosteroiden aus dem Harn. Die Modifikation besteht zunächst darin, daß die Mineralocorticoide mit Petroläther weitgehend eliminiert, die Glukocorticoide aber in der wässrigen Phase gelöst werden. S t a u d i n g e r und Mitarb. zerstören dann die spezifische Gruppe $\text{CO}\cdot\text{CH}_2\text{OH}$ mit Lauge. Demgegenüber wird von S t u h l f a u t h die von P o r t e r und S i l b e r angegebene Farbreaktion angewandt, die auf der intensiven Gelbfärbung mit P h e n y l h y d r a z i n und S c h w e f e l s ä u r e beruht.

Diese Färbemethode erfaßt im wesentlichen cortisonartige Steroide als Glukocorticoide, und 11-Desoxy-17-oxycorticonsteron als ein Mineralocorticoid.

Die angefärbten aus dem Harn eluierten Hormone werden spektral-photometrisch (Beckmann-Apparat) gemessen. Die Porter-Silber-Chromogene haben ihr Absorptionsmaximum bei $410\text{ m}\mu$

Die Eichkurve wird mit Cortison angefertigt.

Der Gang der Extraktion ist folgender:

200 ccm eines 24 Std.-Urins werden 5 mal mit je 25 ccm Chloroform ausgeschüttelt. Anschließend zentrifugiert man den Chloroformextrakt 15 min. und saugt den an der Oberfläche sich abscheidenden Harn ab.

Filtrierung des Zentrifugats und Destillierung bei mäßiger Temperatur.

Für die weitere Extraktion werden zwei kleinere Scheidetrichter (A u.B) benötigt.

Das Destillat wird in 10 ccm Petroläther und 5 ccm 1% HCL-Alkohol aufgelöst, in Scheidetrichter B überführt und mit

je 5 ccm HCL-Alkohol dreimal nachgewaschen.

Nach gutem Schütteln läßt man die untere Schicht (HCL-Alkohol) in den Scheidetrichter A ablaufen und verwirft die obere Schicht.

Zu A werden 10 ccm 1n HCL + 10 ccm Petroläther pipettiert und wieder gut geschüttelt; danach bringe man die untere Schicht in den Scheidetrichter B, die obere wird verworfen.

Den Inhalt in Scheidetrichter B schüttelt man 4 mal mit je 5 ccm Chloroform aus und bringt jeweils die untere Schicht in Scheidetrichter A; nach dem vierten mal wird die obere Schicht verworfen.

Um die sauren Harnchromogene zu eliminieren, fügt man zu A 5 ccm 0,5n NaOH hinzu; nach kräftigem Schütteln wird die untere Schicht (Chloroform) in B gebracht. Der Vorgang wird mit 0,1n NaOH wiederholt.

Zur Entfernung der basischen Harnchromogene gibt man zu A 5 ccm n/10 H_2SO_4 und schüttelt gut durch. Die untere Schicht füllt man durch Kieselgel (Blaugel) in einen Meßzylinder.

Der nunmehr farblose Inhalt des Meßzylinders wird mit Chloroform auf 30 ccm aufgefüllt, der gut gemischte Inhalt exakt in zwei gleiche Teile geteilt und in zwei 50 ccm Erlenmeyerkölbchen gefüllt.

Bei mäßiger Temperatur wird das Chloroform abdestilliert.

Färben:

In jeden der zwei Erlenmeyerkölbchen wird 10ccm Methanol hinzu gefügt.

Für den Vollwert kommen in einen Kolben 8 ccm Phenylhydrazinschwefelsäure und für den Leerwert in den anderen Kolben 8 ccm verdünnte Schwefelsäure.

Beide Lösungen werden in zwei Reagenzgläser gefüllt und bei 60° Cel. 20 min. lang im Wasserbad erhitzt, und anschließend unter dem Wasserstrahl circa 3 min. abgekühlt.

Jetzt sind die Porter-Silber-Chromogene gefärbt und die Messung kann mit dem Photometer Beckmann bei einer Wellenlänge von 405 m μ erfolgen.

Zubereitung der Phenylhydrazinschwefelsäure:

162,5 mg Phenylhydrazin auf 250 ccm verdünnte H_2SO_4 .

Zubereitung der Schwefelsäure:

190 ccm aqua dest. auf 310 ccm H_2SO_4 , spez. Gew. 1,84.

Aus einer Eichkurve, die aus Cortisonlösungen mit aufsteigender Konzentration aufgestellt wurde, sind aus der Extinktion die Gammawerte ermittelt worden.

Bei der langwierigen Extraktion mit vielen Arbeitsgängen und der geringen Menge der extrahierbaren Substanz entsteht ein verhältnismäßig hoher Arbeitsverlust. Er stellt jedoch bei geringfügigen Schwankungen eine konstante Größe dar, die bei der Ermittlung der Ergebnisse berücksichtigt und durch Recoveryuntersuchungen ermittelt wurde.

Bestimmung:

- I. Aus 100 ccm Urin werden die Corticoide bestimmt,
- II. 200 ccm des gleichen Urins wird eine bekannte Menge Cortison zugesetzt, worauf man auch hier die Corticoide bestimmt.

Die Differenz aus II-I ergibt die wiedergefundene Menge des zugesetzten Cortisons.

Nach Subtraktion der Extinktion der Phenylhydrazinschwefelsäure, die 0,023 betrug, ergaben sich folgende Realextinktionen für:

- a) 100 μ Cortison 0,327
- b) Corticoidmenge aus 100 ccm Urin 0,038
- c) Corticoidmenge aus 100 ccm des gleichen

Urins + 100 μ Cortison 0,272

Setzt man a) = 0,327 = 100% und c) - b) = 0,234 = x%,

so ergibt sich folgende Proportionalgleichung:

$$\frac{0,327}{100} = \frac{0,234}{x} \quad x = \frac{100 \cdot 0,234}{0,327} = 71,83\%$$

Demnach beträgt die Corticoidausbeute mit diesem Verfahren 71,83%, aufgerundet 72%, und der Arbeitsverlust entsprechend 28%.

Nach S t u h l f a u t h (52) beträgt die durchschnittliche Ausscheidung an freien 17-OHCS, bestimmt nach der oben

angegebenen Methode von S t ä u d i n g e r und
S c h m e i s s e r und P o r t e r und S i l b e r
l o o μ .

H a r t e n b a c h berichtet über eine tägliche Ausschei-
dung an freien 17-OHCS von 120-240 μ bei gesunden Personen
im Alter von 40-60 Jahren unter Verwendung desselben Ver-
fahrens (48).

V. Die Ausscheidung von Corticoiden nach Verabreichung
von Nortestosteronabkömmlingen.

Einige Veröffentlichungen über den Einfluß des 19-Nortestosterons auf die Höhe der Corticoidkonzentration im Blutplasma und im Urin lassen folgendes erkennen:

Nach einer Arbeit von B r i c h a n t und Mitarb. (7) senkt das 17-Äthyl-19-Nortestosteron (Nilevar) deutlich den Spiegel der 17-21-Dihydroxy-20-Ketosteroide sowohl im Blutplasma als auch im Urin. Bei exogen zugeführtem Hydrocortison hatte Nilevar keinen Einfluß auf die nunmehrige Erhöhung des Harncorticoidspiegels. Ebenso konnte der Anstieg der 17-21-Dihydroxy-20-Ketosteroide nach intravenöser Verabreichung von ACTH durch Nilevar nicht verhindert werden. Unter den angewandten experimentellen Bedingungen war auch kein Einfluß des Nilevar auf die Erhöhung der 17-OHCS-Produktion durch einen Fieberstress vorhanden. Die verabreichte Dosis betrug 30 mg Nilevar tägl. über mehrere Tage. Bestimmt wurden die 17-OHCS-Steroide nach der Methode von R e d d y , modifiziert von H e r t o g h e und P o r t e r - S i l l b e r . Die Verminderung war signifikant.

Im Gegensatz dazu steht eine Mitteilung von C a r t e r (13), nach dessen Befunden, auch nach längerer Verabreichung von Nilevar in therapeutischen Dosen, die NNR-Funktion nicht beeinträchtigt wird. Carter bestätigt entsprechend, daß die ACTH-Stimulierung der NNR durch Nilevar nicht beeinflußt wird. Demgegenüber wieder beobachtete B r o o k s und P r u n t y eine Senkung der Ausscheidung von 17-Ketosteroiden und 17-Hydroxycorticoiden (OHCS) nach Gabe von 50-100 mg Nilevar.

Nach Verabreichung von Methyl- und Äthynylnortestosteron fand G r e e n b l a t t (31) in einigen Fällen keine Veränderung der normalen physiologischen Harncorticoid- und 17-Ketosteroidausscheidung.

F é r i n und V a n e k berichteten (51) von einer Hemmung der NNR-Funktion durch die Applikation von Methylnortestosteron in Dosen von 5 mg - 50 mg tägl. über mehrere Ta-

ge. Die Verminderung der 17-Ketosteroide bei dieser Patientengruppe betrug 20-50%. Das Pregnantriol, das auch als NNR-Metabolit gilt, war ebenfalls vermindert.

Nach einer Mitteilung von P o t s (32) sind die Ausscheidungswerte der Corticosteroide nicht verändert bei oraler Gabe von 140-240 mg Äthinylnortestosteron über einen Zeitraum von 12 - 14 Tage, bzw. bei Dosen von 50 mg auf fünf Tage. Die Verträglichkeit der Präparate war gut. Erscheinungen wie Müdigkeit, Schwindelgefühl und Erbrechen, die G r e e n b l a t t in vielen Fällen sah, wurden nicht beobachtet.

Bei oraler Gabe von täglich 10 mg Äthinylnortestosteron während 20 Tagen beobachtete P i n c u s (53) eine Verminderung der Harncorticoidausscheidung von 30 - 40% gegenüber den Ausgangswerten. Es handelte sich um 32 weibliche Patienten im Durchschnittsalter von 27 Jahren. Parallel dazu war die Ausscheidung der 17-Ketosteroide um 45 - 50% vermindert.

Zu übereinstimmenden Ergebnissen kam H u i s in't V e l d bei Männern bezüglich der 17-Ketosteroidausscheidung.

Eigene Ergebnisse.

Bei 16 Frauen im Alter von 45-67 Jahren erfolgten Bestimmungen der 17-21-Dihydroxy-20-Ketosteroide im 24 Std.Sammelurin vor und nach Verabreichung von veresterten und unveresterten Nortestosteronabkömmlingen.

Die Stoffe wurden teils parenteral, teils oral gegeben. Es kamen vier verschiedene Präparate zur Anwendung.

Unveresterte Nortestosteronabkömmlinge:

- I. Äthinylnortestosteron
- II. Methylnortestosteron

Veresterte Nortestosteronabkömmlinge:

- I. Äthinylnortestosteronönanthathat
- II. Äthinylnortestosteronacetat

Die verabreichten Dosen betrugen zwischen 30 mg - 200 mg täglich.

Die Patienten befanden sich entweder schon längere Zeit in der Menopause oder hatten nach Bestrahlung oder Operationen keine oder keine nennenswerte Ovarialfunktion mehr. Dadurch wurden Nebeneinflüsse durch zyklische Schwankungen von seiten der Ovarialhormone weitgehend ausgeschlossen. Die Frauen hatten kein Fieber und nahmen keinerlei Medikamente zu sich, da die Untersuchungsergebnisse durch die meisten Medikamente, wie Salicylate, Barbiturate und cardiale Präparate, beeinträchtigt werden. In einem Fall blieb z.B. nach Dextropur die Extinktion aus.

Im folgenden werden nun die Ergebnisse tabellarisch und graphisch dargestellt.

Fall I-III:

100 mg Äthinylnortestosteron oral, verteilt auf zwei Tage mit je 50 mg (10 Tabl.).

In allen drei Fällen zeigt sich eine mehr oder weniger deutliche Erniedrigung der 17-21-Dihydroxy-20-Ketosteroidausscheidung nach Gabe des Präparates. Die Erniedrigung der 17-OHCS-Werte hielt 3-5 Tage an.

Fall I: Frau Wa., 55 J. Seit einem Jahr in der Menopause.

Datum	24Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
12.6.58	1000	0,075	243
13.6.	600	0,073	142
50 mg Äthinylnortestosteron			
14.6.	650	0,068	142
50 mg Äthinylnortestosteron			
16.6.	900	0,035	101
17.6.	1200	0,050	194
18.6.	1200	0,025	97

Fall II: Frau Hei., 45 J. Zustand nach Totalexstirpation
des Uterus myomatosus unter Mitnahme beider
Adnexe.

Datum	24Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
16.6.58	700	0,065	148
17.6.	1300	0,035	150
50 mg Äthinylnortestosteron			
18.6.	1100	0,034	119
50 mg Äthinylnortestosteron			
19.6.	900	0,045	131
20.6.	600	0,065	125
21.6.	650	0,035	74
22.6.	1400	0,023	104
23.6.	700	0,035	79
24.6.	850	0,055	149

Fall III: Frau Ja., 48 J.: Zustand nach Exstirpation des Uterus Myomatosus unter Mitnahme der Adnexe.

Datum	24Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
26.6.58	950	0,063	193
27.6.	1100	0,077	270
50 mg Äthinylnortestosteron			
28.6.	950	0,050	153
50 mg Äthinylnortestosteron			
29.6.	850	0,040	112
30.6.	Urin sehr trüb, keine Extinktion.		
1.7.	1520	0,030	148
2.7.	930	0,060	182

Fall IV-VI:

100 mg Methylnortestosteron i.m. (Fall IV).

2 mal 50 mg Methylnortestosteron oral (Fall V-VI).

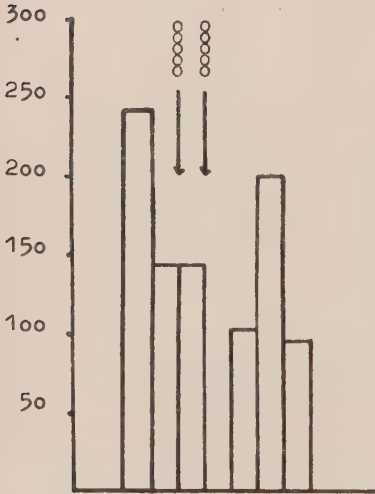
Bei parenteraler Zufuhr von 100 mg Methylnortestosteron beträgt die Verminderung der Harncorticoide die Hälfte der durchschnittlichen Ausgangswerte. Die Depression hält zwei Tage an, am 3.Tag post injektionem erfolgt wieder ein Anstieg der Corticoidausscheidung über die Ausgangswerte. Bei oraler Gabe des gleichen Stoffes in derselben Menge, aber verteilt auf zwei Tage zu je 50 mg, ist in einem Fall eine einen Tag dauernde Verminderung vorhanden. Im zweiten Fall tritt nach anfänglichem Anstieg am 4.Tag ein völliges Erlöschen der Harncorticoidausscheidung auf.

Der extrem hohe einmalige Ausgangswert im Fall V ist unter Umständen auf das Rheogen zurückzuführen, das die Patientin versehentlich tags zuvor bekam.

Ausscheidung der 17-OHCS in Gamma im 24 Stunden
Sammelurin nach Gabe von Äthinylnortestosteron

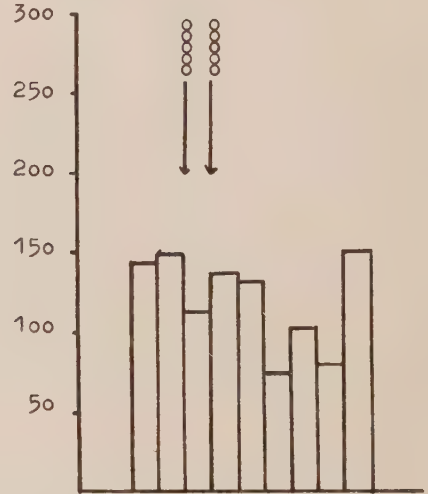
o = 10 mg Äthinylnortestosteron

Gamma

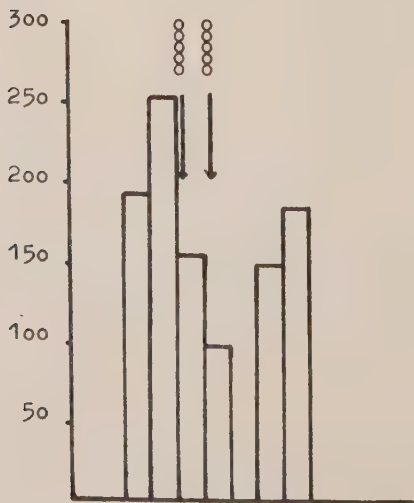


Fall I

Gamma



Fall II



Fall III

Fall IV: Frau Cz., 66 J. Seit elf Jahren Menopause.
100 mg Methylnortestosteron i.m.

Datum	24Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
2.2.58	1300	0,012	53
3.2.	700	0,010	27
100 mg Methylnortestosteron			
4.2.	750	0,003	10
5.2.	750	0,008	19
6.2.	1100	0,023	89

Fall V: Frau Bo., 58 J. Seit drei Jahren Menopause.
2 mal 50 mg Methylnortestosteron oral.

Datum	24Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
10.4.58	abends zwei Tabl. Rheogen		
11.4.	1650	0,051	259
12.4.	1600	0,015	87
50 mg Methylnortestosteron			
13.4.	1550	0,011	56
50 mg Methylnortestosteron			
14.4.	1500	0,025	122
15.4.	1250	0,020	83
16.4.	1280	0,042	173
17.4.	1200	0,034	130

Fall VI: Frau Sp., 47 J. Zustand nach Entfernung beider Adnexe und des Uterus.

2 mal 50 mg Methylnortestosteron oral.

Datum	24 Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
17.6.58	600	0,050	97
18.6.	1100	0,026	89
50 mg Methylnortestosteron			
19.6.	1000	0,052	165
50 mg Methylnortestosteron			
20.6.	1000	0,000	0
21.6.	650	0,055	116

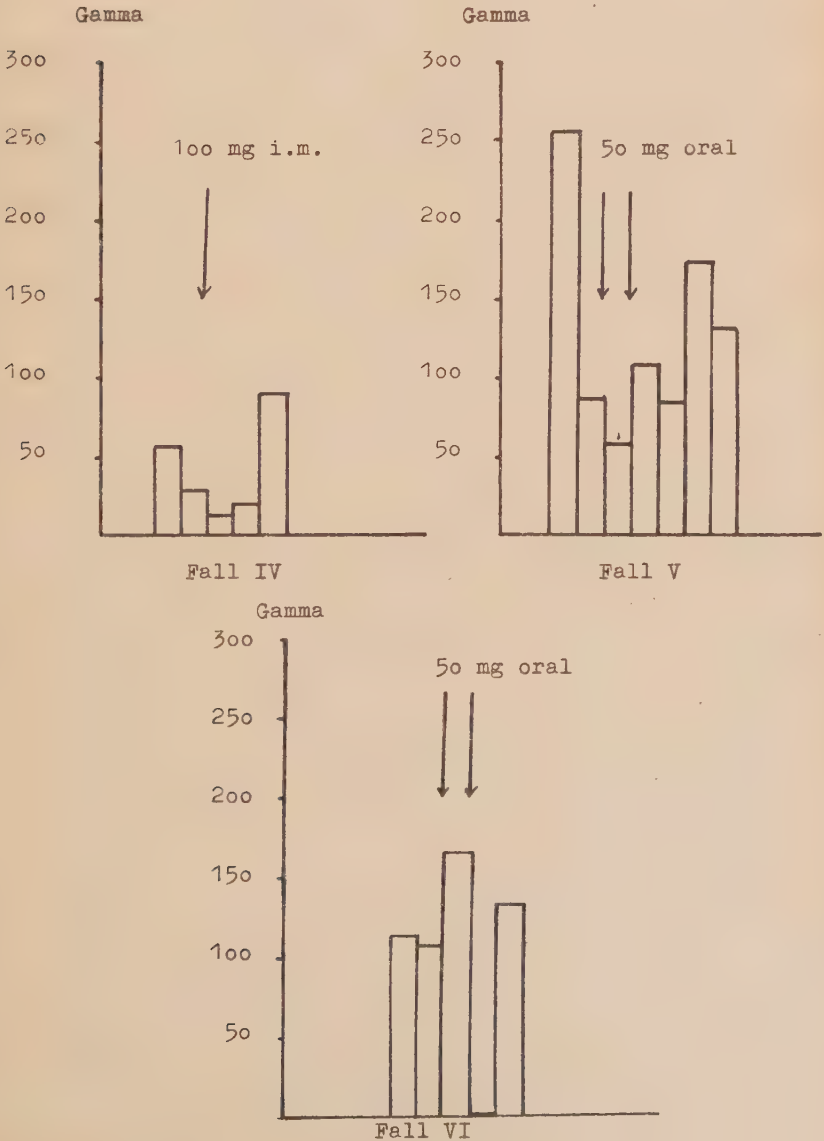
Fall VII-XI: 200 mg Äthinylnortestosteronoenanthat, i.m.

In drei Fällen (VII, X, IX) weist die 17-OHC-Ausscheidung nach einmaliger Gabe von 200 mg des Stoffes zunächst einen deutlichen Anstieg auf, der in zwei von diesen Fällen zwei Tage andauert. In Fall VIII tritt diese Erhöhung am 3.Tag post injektionem ein.

Der Anstieg der 17-OHC-Ausscheidung erfolgt also in den Fällen VII - X bis spätestens zum 3.Tag post injektionem, dann folgt eine Phase sinkender Werte.

In einem Fall (XI) ergibt sich eine ständige verminderte Harncorticoidausscheidung.

Die Ausscheidung der 17-OHCS in Gamma in 24 Stunden im
Sammelurin nach Gabe von Methylnortestosteron.



Fall VII: Frau Ga., 48 J.: Regel nur noch vereinzelt.
Zustand nach Manchester-Fothergill'scher
Operation wegen Genitalprolaps.

Datum	24Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
11.2.58	730	0,036	69
12.2.	780	0,035	68
13.2.	850	0,045	121
200 mg Äthinylnortestosteronönanthät			
14.2.	1700	0,054	287
15.2.	630	0,032	64
16.2.	1500	0,008	40

Fall VIII: Frau Ste., 60 J.: Menopause.

Datum	24Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
17.2.58	600	0,034	65
200 mg Äthinylnortestosteronönanthät			
18.2.	1000	0,014	54
19.2.	1200	0,014	65
20.2.	1200	0,047	211
21.2.	1200	0,013	57

Fall IX: Frau Sti., 63 Jahre: Menopause.

Datum	24Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
24.1.58	1500	0,061	293
25.1.	1450	0,031	157
200 mg Äthinylnortestosteronönanthat			
26.1.	1400	0,066	302
27.1.	1400	0,052	227
28.1.	500	0,072	115

Fall X: Frau Je., 58 J.: Menopause.

Datum	24Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
27.3.58	900	0,058	163
28.3.	1400	0,052	227
200 mg Äthinylnortestosteronönanthat			
29.3.	1150	0,088	314
30.3.	1330	0,069	285
31.3.	1020	0,023	73
1.4.	1100	0,062	207
2.4.	1450	0,010	66

Fall XI: Frau Sch., 51 J.: Zustand nach Entfernung der linken Adnexe. Amenorrhoe seit August 1957.

Datum	24Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
4.3.58	1300	0,051	216
5.3.	1020	0,059	237
200 mg Äthinylnortestosteronönanthrat			
6.3.	1180	0,028	111
7.3.	1380	0,025	112
8.3.	980	0,063	198

Fall XII - XVI: Äthinylnortestosteronacetat oral.

Fall XII - XIII: 2mal 50 mg Äthinylnortestosteronacetat oral.

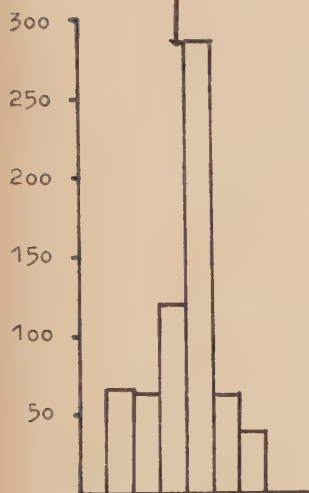
In Fall XII ist nach oraler Applikation von Äthinylnortestosteronacetat eine deutliche Verminderung der Harncorticoidausscheidung zu verzeichnen. Die Depression setzt sofort ein und hält 4 Tage an.

In Fall XIII ist an zwei Tagen keine Corticoidausscheidung nachweisbar.

Die Werte liegen im Durchschnitt mit 112 μ tiefer, als vorher mit 203 μ

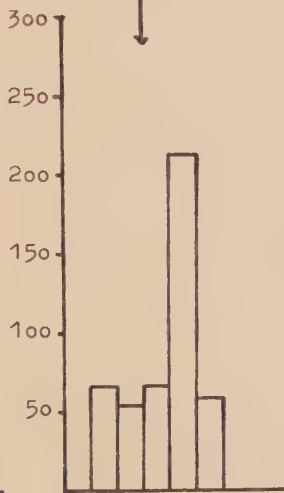
Ausscheidung der 17-OHCS in Gamma im 24 Stunden
Sammelurin nach Gabe von Äthinylnortestosteronnanthrat.

200 mg i.m.



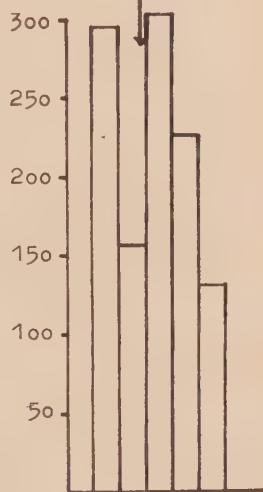
Fall VII

200 mg i.m.



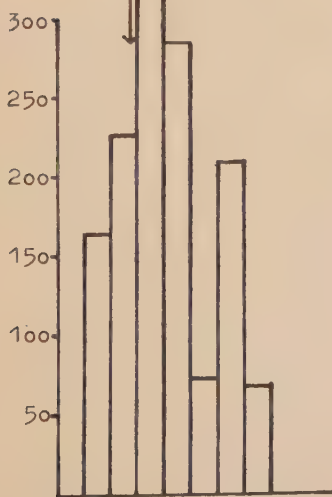
Fall VIII

200 mg i.m.



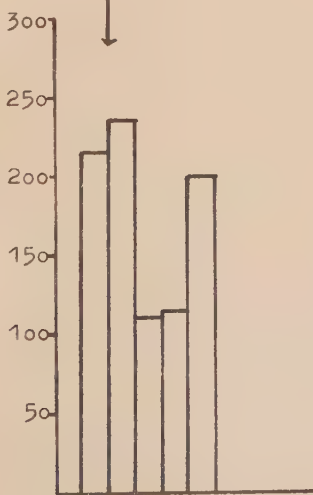
Fall IX

200 mg i.m.



Fall X

200 mg i.m.



Fall XI

Fall XII: Frau Bö., 51 J.: Seit Januar Menopause.

Datum	24Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
25.4.58	1200	0,037	142
26.4.	1000	0,045	146
50 mg Äthinylnortestosteronacetat			
27.4.	800	0,054	140
50 mg Äthinylnortestosteronacetat			
28.4.	850	0,040	72
29.4.	900	0,005	16
30.4.	1100	0,035	122
1.5.	1130	0,017	61

Fall XIII: Frau Scho., 48 J.: Zustand nach Totalexstirpation des Uterus myomatosus unter Belassung der rechtsseitigen Adnexe. Periode nur noch vereinzelt.

Datum	24Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
6.5.58	1570	0,047	239
7.5.	2100	0,040	168
50 mg Äthinylnortestosteronacetat			
8.5.	2060	0,000	0
50 mg Äthinylnortestosteronacetat			
9.5.	2600	0,012	105
10.5.	1600	0,000	0
11.5.	1700	0,018	96
12.5.	2550	0,016	135
13.5.	1420	0,021	96
14.5.	2800	0,015	128

Fall XIV - XV: Äthinyltestosteronacetat

30 mg täglich.

In beiden Fällen wird nach oraler Applikation von 2 mal 30 mg des Stoffes innerhalb von 48 Stunden ein völliges Aufhören der Harncorticoidausscheidung beobachtet. An den folgenden Tagen liegen sämtliche Werte unter der Ausgangsausscheidung. In Fall XV wird auch am 3.Tag post injectionem keine meßbare Corticoidausscheidung festgestellt. Im ganzen ist eine starke Reduzierung der Ausscheidung zu verzeichnen.

Fall XIV: Frau Gei., 67 J.: Menopause.

Datum	24Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
17.5.58	700	0,052	115
18.5.	670	0,050	110
Folgende Tage tägl. 30 mg Äthinyltestosteronacetat			
19.5.	670	0,000	0
20.5.	750	0,042	105
21.5.	600	0,030	58
23.5.	980	0,013	42
26.5.	650	0,000	0
29.5.	700	0,046	105

Fall XV: Frau Hu., 54 J.: Menopause seit Dez.57.

Datum	24Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
3.6.58	1480	0,040	190
4.6.	1100	0,044	156
Die folgenden Tage tägl. 30 mg Äthinylnortestosteron- acetat			
5.6.	1270	0,047	192
6.6.	900	0,000	0
7.6.	1100	0,000	0
8.6.	650	0,006	18

Fall XVI:

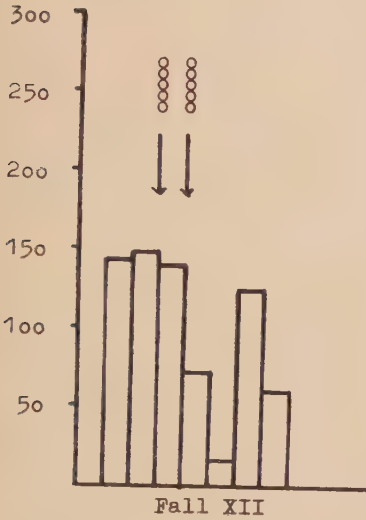
Hier wurde geprüft, inwieweit die NNR auf ACTH ansprechbar ist, wenn mehrere Tage zuvor tägl. 30 mg Äthinylnortestosteronacetat gegeben werden. Die Harncorticoidausscheidung beträgt vor dem Stress 0, bzw. 89 μ . Nach Injektion von 75 EH ACTH erfolgt ein Anstieg der Corticoidwerte auf das 5-6 fache. Nach anschließend weiterer Verabreichung von 30 mg Äthinylnortestosteronacetat sinkt die Ausscheidung wieder auf Null ab.

Ausscheidung der 17-OHCS in Gamma im 24 Stunden
Sammelurin nach Gabe von Äthinylnortestosteronacetat.

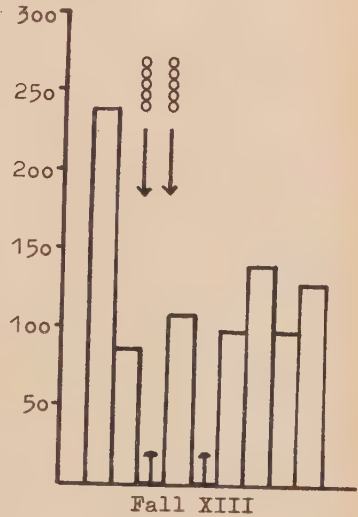
o = 10 mg Äthinylnortestosteronacetat

I = 0 Gamma

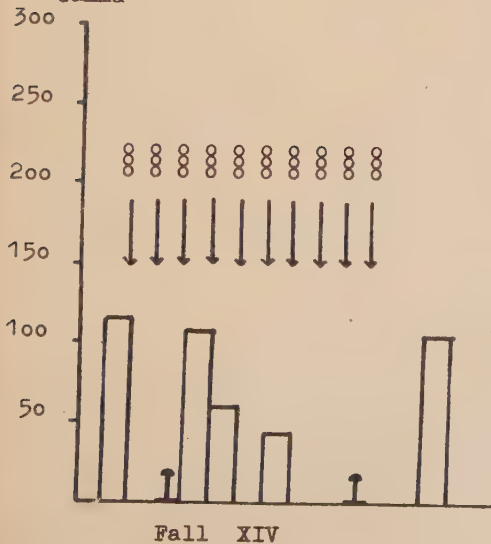
Gamma



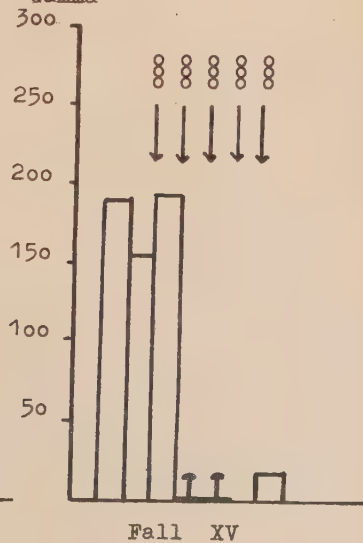
Gamma



Gamma



Gamma



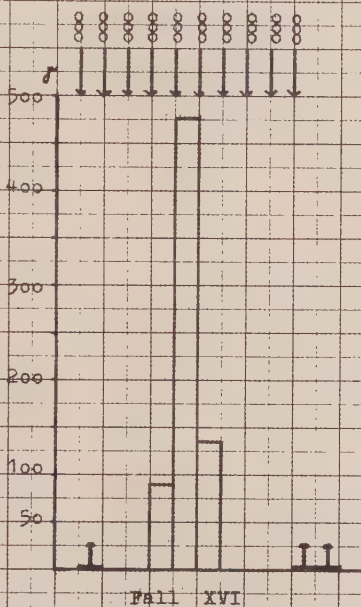
Fall XVI: Frau BU., 61 J.: Menopause.

Datum	24Std.Urin in ccm	Extinktion	Corticoide in Gamma
Mehrere Tage zuvor tägl. 30 mg Äthinyl- nortestosteronacetat oral.			
13.5.58	1500	0,000	0
16.5.	1100	0,025	89
75 EH ACTH + 30 mg Äthinyl- nortestosteronacetat			
17.5.	1100	0,135	476
weiter täglich 30 mg Äthinyl- nortestosteronacetat			
18.5.	1180	0,037	134
22.5.	1100	0,000	0

$\sigma = 10 \text{ mg Äthinylnortestosteronacetat}$

$I = \sigma \text{ Gamma}$

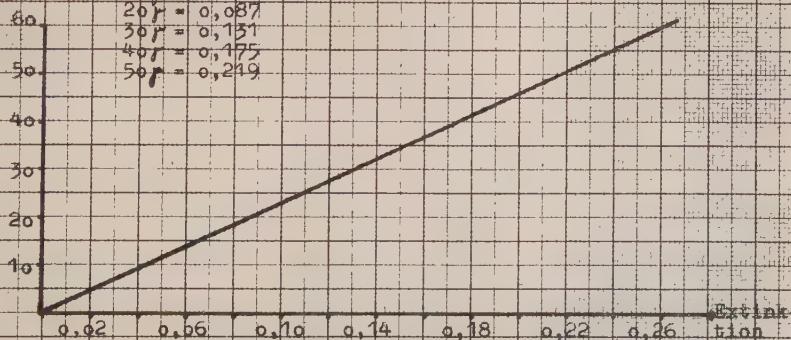
75 EH ACTH



BECKKURVE FÜR CORTISON

Gamma

$10\gamma = 0,044$
 $20\gamma = 0,087$
 $30\gamma = 0,131$
 $40\gamma = 0,175$
 $50\gamma = 0,219$



Zusammenfassung der Ergebnisse.

(Tabelle)

I. Äthinylnortestosteron.

100 mg Äthinylnortestosteron oral (alle Werte in Gamma)				
Werte vor Verabreichung		Werte nach Verabreichung		
Anzahl: 6	Mittelwert	Anzahl: 12	Mittelwert	
243	191	142	125	131,1
142		101	74	
148		194	153	
150		97	112	
193		119	142	
270		131	182	

Setzt man den mittleren Ausgangswert von 191 = 100%, so beträgt der mittlere Wert nach Verabreichung des Äthinylnortestosteron von 131,1 = 68,5%.

Dies bedeutet eine Reduzierung der 17-21-Dihydroxy-20-Ketosteroide um 31,5%.

II. Methylnortestosteron.

100 mg parenteral oder oral (Werte in Gamma)				
Werte vor Verabreichung		Werte nach Verabreichung		
Anzahl: 6	Mittelwert	Anzahl: 9	Mittelwert	
53	102	10	165	73,3
27		19	0	
259		89	116	
87		56		
97		122		
89		83		

Setzt man den mittleren Ausgangswert von 102 = 100% , so beträgt der mittlere Wert von 73,3 nach Verabreichung von Methylnortestosteron entsprechend = 72%.

Dies bedeutet eine Reduzierung der 17-21-Dihydroxy-20-Ketosteroide um 28%.

III. Äthinylnortestosteronönanthat.

200 mg parenteral (alle Werte in Gamma)			
Werte vor Verabreichung		Werte nach Verabreichung	
Anzahl: 10	Mittelwert	Anzahl: 15	Mittelwert
69 216	162	287 115	164
68 237		64 314	
121		40 285	
65		54 73	
293		65 111	
157		211 112	
163		302 198	
227		227	

Setzt man den mittleren Ausgangswert von 162 = 100% ,
so beträgt der mittlere Wert von 164,0 nach Verabreichung von Äthinylnortestosteronönanthat entsprechend = 101,2%.

Dies bedeutet eine geringe Erhöhung der 17-21-Dihydroxy-20-Ketosteroide um 1,2%.

IV. Äthinyltestosteronacetat.

30 mg - 50 mg täglich oral (alle Werte in Gamma)			
Werte vor Verabreichung		Werte nach Verabreichung	
Anzahl: 8	Mittelwert	Anzahl: 16	Mittelwert
142	156	140	105
146		72	0
239		16	58
168		122	42
115		0	192
110		105	0
190		0	0
156		96	18
			60

Setzt man den mittleren Ausgangswert von 156 = 100% ,
so beträgt der mittlere Wert von 60,0 nach Verabreichung von Äthinyltestosteronacetat entsprechend
= 38,4%.

Dies bedeutet eine Reduzierung der 17-21-Dihydroxy-
20-Ketosteroide um 61,6%.

VI. Diskussion.

Da die verabreichten Nortestosteronabkömmlinge offenbar einen Einfluß auf die Ausscheidung der 17-21-Dihydroxy-20-Ketosteroide haben, erhebt sich die Frage nach dem möglichen Angriffspunkt dieser Präparate. Es gibt im wesentlichen zwei Möglichkeiten:

Eine direkte Wirkung am Substrat der NNR oder Einflüsse auf das übergeordnete Reglersystem der NNR, d.h. auf die adrenocorticotrope Funktion des HVL.

Für den Angriffspunkt am übergeordneten Reglersystem im Sinne einer Hemmung spricht die von B r i c h a n t (7) und anderen nachgewiesene Tatsache, daß eine Depression der Corticoidwerte nach Gabe von Äthyl-nortestosteron sofort durch exogene Zufuhr von ACTH aufgehoben wird. Die 17-OHCS-Ausscheidung reagiert auf ACTH mit einem typischen Anstieg der Werte um ein Vielfaches. Würde das Nortestosteron am Substrat der NNR angreifen, so wäre der Angriffspunkt des ACTH blockiert und es könnte keine vermehrte Ausschüttung an Corticoiden stattfinden.

Die Untersuchungen ergeben fast durchweg eine Reduzierung der 17-OHCS-Ausscheidung nach Gabe von Nortestosteron. Dies bedeutet somit eine gedrosselte Sekretion von ACTH. Die vereinzelt festgestellten kurzfristigen Steigerungen der 17-OHCS-Ausscheidung nach Injektion von Nortestosteron-oenanthat kommen vielleicht durch eine momentane Stimulierung der adrenocorticotropen Funktion des HVL und damit durch eine erhöhte ACTH-Ausschüttung zustande. Hier spricht gegen ein unmittelbares Einwirken auf das Substrat der NNR die nur kurz andauernde Erhöhung der 17-OHCS-Werte.

Zusammenfassung.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Ausscheidungs- menge an 17-21-Dihydroxy-20-Ketosteroiden im Harn nach Verabreichung von vier verschiedenen Nortestosteronabkömmlingen bestimmt. Zur Bestimmung der Harncorticoide wurde eine von S t u h l - f a u t h angegebene Methode verwendet, die auf den Methoden von S t a u d i n g e r - S c h m e i s s e r und P o r t e r - S i l b e r beruht und vorallem freies Cortisol und cortisolähnliche Substanzen erfaßt.

Von den verabreichten Nortestosteronabkömmlingen waren zwei unverestert (Methyl- und Äthinylnortestosteron) und zwei Präparate verestert (Äthinylnortestosteronönanthrat und -acetat. Die Zufuhr der Substanzen erfolgte teils parenteral in Dosen von 100-200 mg, teils oral in Dosen von 30-50 mg täglich.

Nach oraler Gabe (2 mal 50 mg) von Äthinylnortestosteron zeigte sich in drei Fällen eine Verminderung der 17-OHCS-Ausscheidung, die 3-5 Tage anhielt. Wenn man den Durchschnitt errechnet aus den Werten aller drei Fälle, so ergibt sich eine Reduzierung der 17-OHCS-Ausscheidung gegenüber dem Ausgangswert von 31,5%.

Bei parenteraler Zufuhr von Methylnortestosteron war eine Verminderung der 17-OHCS-Ausscheidung an den zwei folgenden Tagen post injektionem in Fall IV zu beobachten. Bei oraler Gabe des gleichen Stoffes in 2 Fällen, verteilt auf zwei Tage zu je 50 mg, war die Reduzierung der 17-OHCS-Ausscheidung uneinheitlich, doch ergeben alle drei Fälle zusammengenommen eine durchschnittliche Reduzierung von 28% gegenüber den Ausgangswerten.

Eine sehr starke Verminderung der 17-OHCS-Ausscheidung zeigte sich nach oraler Zufuhr von täglich 30 mg Äthinylnortestosteronacetat. An einigen Tagen war in jedem der Fälle überhaupt keine Ausscheidung der 17-OHCS meßbar. Insgesamt ergab der Durchschnitt aus 4 Fällen eine Verminderung der

der 17-OHCS-Ausscheidung gegenüber den Ausgangswerten von 61,6%.

Abweichend von diesen Ergebnissen war die Wirkung von Äthinylnortestosteron-oenanthat auf die 17-OHCS-Ausscheidung.

In einem Fall (XI) konnte man zwar eine deutliche Reduzierung der Werte, in allen vier anderen Fällen aber durchweg eine geringe Erhöhung der 17-OHCS-Ausscheidung post injectionem beobachten. Der Durchschnitt aus fünf Fällen ergab eine geringe Erhöhung der Ausscheidungswerte von 1,2% gegenüber den Ausgangswerten.

Man kann also sagen, daß außer dem Äthinylnortestosteron-oenanthat alle übrigen drei verabreichten Substanzen aus der Nortestosteronreihe eine Verminderung der 17-OHCS-Ausscheidung im Harn verursachen, die auf einer Beeinflussung der adrenocorticotropen Funktion des HVL beruht.

Literaturangaben.

- 1) Ingle D.J.:Endocrinology 34,191 (1944)
- 2) Staudinger H.J.:Zschr.f.physiol.Chem. 283,54 (1948)
- 3) Overbeck und de Visser:Acta endocrinologica 22,318(1956)
- 4) Daughaday W.H.,H.Jaffu,R.H.Williams:J.clin.Endocrinology
8,166 (1948)
- 5) Talbot H.,A.H.Saltman,R.L.Wixon:J.of biol.Chem.165,699(1946)
- 6) Zander J.:Klin.Wschr. 873 (1952)
- 7) Brichant I.,M.L.Brichant,E.Engel et A.M.Riondel:
Schweiz.med.Wschr. März 1958
- 8) Noble R.L.:Pincus-Thimann:Hormones 2,65 (1950)
- 9) Staemmler H.J.:Arch.f.Gynäkologie 182,561 (1953)
- 10) Husslein H.,E.Schüller:Arch.f.Gynäk. 187,353-374 (1956)
- 11) Borella-Illussia J.:Rev.espan.clin. 1,4 (1941)
- 12) Pincus G.,Pearlmann W.H.:Vitamines and Hormones (1943)
- 13) Carter A.C. u.a.:Proc.Soc.Exper.Biol.Med.98,3:593(1958)
- 14) Hübener H.J.,E.Hoffmann u.a.:Arch.f.Gyn. 289,102 (1952)
- 15) Pearlmann W.H.:J.of Biol.Chem. 176,487 (1948)
- 16) Dobriner R.,S.Liebermann:J.of Biol.Chem.172,297 (1948)
- 17) Hechter O.,G.Pincus:Physiol.Rev. 34,459 (1954)
- 18) Polley H.F.,H.L.Mason:J.amer.med.Ass.143,1474 (1950)
- 19) Junkmann K.:Arch.exper.Path.u.Pharm. 223,244 (1954)
- 20) Dorfmann R.J.:Metabolisme of neutral C₂₁-and C₁₉-Steroids:
Ciba Fond.Coll.Endocrinol.2 (1952)
- 21) Hechter O.:The Adrenal Cortex.Trans.3.Conf.,S.115 (1951)
- 22) Wettstein A.:Int.Kongress f.Biochemie Wien (1958)
- 23) Speirs R.S.,R.H.Meyer:Endocrinology 45,403(1949);48,316(1951)
- 24) Ramey E.R.,M.S.Goldstein u.a.:Amer.J.Physiol.165,450 (1951)
- 25) Staemmler H.J.,Chr.Lauritzen:Med.Klin. 2167 (1956)
- 26) Staudinger H.J.:Klin.Wschr. 330 (1954)
- 27) Engel L.E.,J.Alexander:J.Biol.Chem. 231,1:159 (1958)
- 28) Langenbeck W.,J.Baltes:Ber.Dtsch.chem.Ges. 67,387 (1934)
- 29) Norymbersky J.K.:Nature (London) 170,1074 (1952)
- 30) Staudinger H.J.,M.Schmeisser:Bioch.Ztschr. 321,83 (1950)
- 31) Grennblatt R.:B.J.Clin.Endocrin. 16,869 (1956)
- 32) Pots E.: Zbl.f.Gynäk. 79,529-539 (1957)
- 33) Verzar F.:Lehrbuch der inneren Sekretion (1948)

- 34) Botella-Llussia J.:J.Demana med. 6,677 (1945)
- 35) Reichstein T.:Helvetia lim.Acta 19,223 (1936)
- 36) E.L.Hiscuv,F.Bryans,F.Zanon:Endocrinology 46,393 (1950)
- 37) Ronzoni E.: J.clin.Endocrin. 12,527 (1952)
- 38) Schreier K.,K.Kadelis,T.Zarska:Klin.Wschr. 657 (1952)
- 39) Pfiffner J.J.:Adv.Enzymol. 2,325 (1942)
- 40) Seyle H.:Einführung in die Lehre vom Adaptationssyndrom
- 41) Pots P.:Geburtsh.u.Frauenhkd. 4,673 (1958)
- 42) Klingmüller V.:Arzneimittelforsch. 1,59 (1951)
- 43) Kaiser R.:Geburtsh.u.Frauenheilk. 17,24 (1957)
- 44) Heard R.D.H.,H.Sobel,E.H.Venning:J.Biol.Chem.165,699(1946)
- 45) Langecker H.:Klin.Wschr. 906 (1952)
- 46) Pfeffer K.H.,W.Ruppel,H.J.Staudinger,L.Weissbecker:
Arch.exp.Path.u.Pharmakol. 214,165 (1952)
- 47) Hechter O.:Ciba Fond.Coll.Endocrinol. 7,161 (1953)
- 48) Hartenbach:M.Med.Wschr. 1,433 (1956)
- 49) Mason H.L.,E.L.Kepler:J.Biol.Chem. 167,13 (1947)
- 50) Porter C.C.,R.H.Silber:J.of Biol.Chem. 185,201 (1950)
- 51) Ferin J.,Vanek R.:Ann.Endocr. 19,3:545 (1958)
- 52) Stuhlfauth:Klin.Wschr. 32,678 (1954)

Lebenslauf

Ich, Karl Herbert W e l s c h, wurde am 5. Oktober 1933 als Sohn des Herrn Dr. med. Kurt Welsch und seiner Ehefrau Marianne geb. Schmid in Karlsruhe geboren.

Meine Kindheit verlebte ich im Elternhaus. Von 1940 - 1944 besuchte ich die Volksschule in Konstanz. Von 1945 - 1951 war ich Schüler des Heinrich-Suso-Gymnasiums in Konstanz. Die letzten 3 Jahre höherer Schulbildung besuchte ich das Spohn-Gymnasium in Ravensburg. An dieser Schule legte ich im März 1954 die Reifeprüfung ab.

Im Sommersemester 1954 begann ich an der Universität Freiburg mit dem Studium der Medizin. Vier vorklinische Semester hörte ich Vorlesungen an der Universität in München. Das Physikum bestand ich im Sommer 1956 in München. Das erste klinische Semester belegte ich an der Universität Innsbruck, die folgenden Semester wieder in München. Meine Famulaturen leistete ich an den städtischen Krankenanstalten in Konstanz ab.

An der Universität in München habe ich im Winter 1959 das medizinische Staatsexamen abgelegt.

